

Universidad del Bío-Bío

Facultad de Educación y Humanidades

Departamento de Educación



DETERMINACIÓN DEL COMPORTAMIENTO TÉRMICO DE
RENACUAJOS DE *Alsodes hugoi* DEL SECTOR DE SHANGRI-LA,
CHILLÁN.

Nombre

Alberto Peregrin Reyes

**Seminario de Título para optar al título de Licenciado en Pedagogía en
Ciencias Naturales mención Biología.**

Profesora Guía Dra. Marcela Vidal Maldonado

CHILLÁN, 2020

ÍNDICE

Agradecimientos	3
Resumen	4
Introducción	5
Hipótesis.....	9
Objetivo General.....	9
Objetivos Específicos.....	9
Marco Teórico.....	10
Metodología	13
Resultados	15
Discusión	16
Bibliografía.....	18
Tablas	24
Figuras	29

AGRADECIMIENTOS

Esta tesis de pregrado está dedicada en memoria de mi tía abuela Gladys Rosales, que fue mi madre durante toda una vida, que entregó todas sus ganas de luchar contra un cáncer, cargando una sonrisa amable y cálida para su único hijo adoptivo. A mis docentes, Dra. Marcela Vidal y MSc. Patricio Chandía por entregar valores como compromiso, empatía y vocación por las ciencias biológicas y educacionales. A mi compañera, amiga, pareja y la inspiración para salir de los momentos más difíciles que me ha tocado pasar, a la Dra. Camila Cerón G.

RESUMEN

Unos de los mecanismos ampliamente estudiados en ectodermos es su capacidad termorreguladora puesto que esta característica muestra las adaptaciones ambientales cambiantes. Existen varios modelos de estudio para estudiar estas conductas y en Chile, siendo lo más analizado es la variación térmica en especies de anfibios y reptiles. Sin embargo, en las especies de anfibios del país, el conocimiento actual es escaso y fragmentario. Dentro de la biodiversidad presente en Chile se destaca la rana endémica *Alsodes hugoi*. Esta especie poco conocida, si bien se distribuye desde Vilches Alto, Región de Maule hasta la Región de Ñuble. En este trabajo se estudiaron las capacidades termoregulatorias de *A. hugoi* de 135 individuos con el objetivo de determinar la capacidad termoconforme (mantiene sus temperaturas corporales similares a las de los ambientes en que vive) durante el desarrollo ontogenético de la larva. Como resultado del monitoreo de la temperatura corporal, temperatura ambiente, temperatura sustrato y la masa), se determinó que durante el estado de renacuajo *A. hugoi* se comporta como una especie termoconforme. Se discuten los alcances de los resultados en términos de sus adaptaciones climáticas al frío de montaña.

Palabras claves: Termorregulación, desarrollo larvario, anfibios, Chile.

INTRODUCCION

Los seres humanos están alterando el clima de la Tierra por lo que el funcionamiento de los organismos vivos en todos los niveles (Pounds et al. 2006). Se piensa que el calentamiento global ha estado incrementado la temperatura media en la Tierra, lo que estaría imponiendo cambios en la mayoría de las especies vivas (Laurance, 2008; Parmesan et al. 1999). Este problema es más evidente en los organismos ectotérmicos debido a su alta dependencia de una fuente externa de calor para poder mantener una adecuada temperatura corporal (Jorgensen, 2002). Además, muchos científicos han señalado que el aumento de las temperaturas y cambios en los patrones climáticos podrían comprometer la supervivencia de muchas otras especies, mientras que otros estudios han mostrado una directa relación entre el calentamiento global y la desaparición de alrededor de 65 especies de anfibios en Centro y Suramérica (McCallum, 2007). Pounds et al. (2006) reconocen efectos del cambio climático que promueven enfermedades infecciosas y erosión en la biodiversidad, pero es también aparente que podría deberse a una sinergia de factores que producirían estos cambios (Brook et al. 2008). El cambio climático puede ocurrir demasiado rápido para algunas especies que no logran adaptarse y/o pueden exacerbar las amenazas existentes como la limpieza de suelos, agricultura y contaminación; rasgos biológicos que hacen susceptibles a las especies al cambio y especies con hábitats restringidos son particularmente vulnerables a la extinción (Lips et al. 2005). Relacionado con el clima, las hipótesis predicen el declive de los anfibios, ya que los cambios de variables relacionados con la temperatura a menudo influyen en la dinámica de un hábitat. Cuando las temperaturas aumentan, las fluctuaciones térmicas pueden cruzar los umbrales críticos de ciertas especies, por lo que se espera sea más mortal por calentamiento en la Tierra (Zippel, 2010).

Los anuros poseen fisiología, comportamiento y plasticidad morfológica que les permiten explorar y sobrevivir en muchos hábitats inusuales tales como ambientes áridos, alturas muy elevadas y piscinas arbóreas (Ultsch et al. 1999). Además, los anuros son animales ectotérmicos muy sensibles a diferentes factores ambientales, pero uno de los más importante es la temperatura (Duellman & Trueb, 1994). Sin embargo, el fotoperiodo también se ha considerado uno de los “factores físicos” que pueden generar un ritmo de

respuesta, permitiendo a los organismos anticiparse a los cambios de temperatura ambiental (Moyes, 2007). Por ejemplo, el fotoperiodo de la rana toro está relacionado con la maduración de los huevos en las hembras durante los periodos de reproducción (Chim et al. 2001). Similarmente, durante la reproducción de *Rhinella arenarum* exhiben cambios en las temperaturas extremas asociadas con la actividad diurna y exposición solar (Sanabria, 2011). Cómo responden los organismos al cambio de temperatura ambiental determinará la persistencia de las especies en ambientes variables. La temperatura está bien documentada como el factor abiótico que más influye en las funciones fisiológicas en ectotermos, debido a efectos termodinámicos en reacciones bioquímicas que subyacen al crecimiento, reproducción y desempeño (Hochachka, 2002). En la mayoría de los ectotermos la temperatura ambiental determina la temperatura corporal (Seebacher & Murray, 2007). En consecuencia, los cambios en la temperatura ambiente afectan la fisiología, altera el rendimiento y la forma física de los individuos .

La alta capacidad termorregulatoria de los anfibios permite inferir que la temperatura corporal (T_c) del anfibio no puede diferir mucho de la temperatura ambiental (T_a) (Hillman et al. 2009; Duarte et al. 2012). Los ambientes acuáticos tienden a ser térmicamente estables durante el ciclo diario, especialmente grandes cuerpos de agua, pero hay casos en que las temperaturas de pequeños cuerpos de agua poco profundos y estanques efímeros todavía puede fluctuar notablemente durante el día (Hillman et al. 2009; Duarte et al. 2012). Además, mantener la temperatura requerida para los procesos tales como alimentación, digestión, tasa de crecimiento, reproducción e inmunidad en organismos ectotérmicos debe depender principalmente de ajustes de comportamiento para regular la temperatura corporal (Navas, 1997). Por lo tanto, a diferencia de los lagartos, los anfibios son rara vez observados en parches soleados (Labra et al. 2008) y estas restricciones para la termoregulación hace que la mayoría de los anfibios sean termoconformistas, es decir, su cuerpo se correlaciona con la temperatura del aire y/o sustrato (T_s) (Lambrinos & Kleier, 2003).

Felton et al. (2009) indicaron que regiones como Latinoamérica, rica en biodiversidad, no están bien estudiadas desde un punto de vista de conservación, y que taxones como los anfibios han recibido muy poca atención. De hecho, en Chile, la situación es crítica pues su riqueza específica es baja pero altamente endémica (63 especies, Lobos et

al. 2013), pero el conocimiento sobre aspectos básicos de su biología, incluyendo termorregulación, es casi nula (Vidal & Labra, 2008). En Chile, actualmente, se reconocen 13 especies de anuros pertenecientes al género *Alsodes* distribuidas en el centro y sur del país (Díaz-Páez & Ortiz, 2003). Este género es el que más especies endémicas presenta, aportando el 29,7% del total. *Alsodes hugoi* (Cuevas & Formas, 2001) es una de las onces especies endémicas del género (Mendez & Correa, 2006) (Díaz-Páez & Ortiz, 2003), conocida sólo de su localidad tipo Vilches Alto, Región de Maule, Chile (Cuevas & Formas, 2001). Esta especie no posee categoría de conservación dentro del Reglamento de la Ley de Caza (SAG, 2015). Díaz-Páez & Ortiz (2003) definen a *A. hugoi* como una especie con densidades poblacionales reducidas y realizaron una categorización de estados de conservación para esta especie a través del cálculo del Índice de Prioridades de Conservación. Ellos determinaron a *A. hugoi* como una especie Insuficientemente Conocida y de Datos Insuficientes de Abundancia y/o Distribución al aplicar los criterios y categorías de la IUCN (International Union for Conservation of Nature). De la misma manera, en la evaluación de las especies de anfibios de Chile, realizada por Veloso (2006), esta especie presenta Datos Deficientes debido a que no se dispone de información relativa a atributos poblacionales y existe un escaso conocimiento acerca de la biología de la especie.

Desde el punto de vista geográfico, aunque no sustentados filogenéticamente, es posible reconocer dos grupos de *Alsodes*. Uno de ellos es de distribución exclusiva en la Cordillera de los Andes (11 especies). Fellers et al. (2001) definieron la hibernación que pasan el invierno las larvas de anuros, es decir, junio- septiembre en el hemisferio sur. Varios factores ambientales influyen los rangos de crecimiento y desarrollo en las larvas de anuros tales como por ejemplo la abertura oral que es visible dorsalmente (Saha & Grupta, 2011). Desde el punto de vista cariológico, *A. hugoi* está incluida en el grupo *Alsodes monticola* cuyas especies tienen 26 cromosomas (Cuevas & Formas, 2001). En las especies de la Cordillera de la Costa es notoria la falta de información sobre distribución geográfica y ecología, siendo la mayoría de estas conocidas sólo de sus localidades tipo. Por otra parte, varias especies son morfológicamente similares, por lo que la determinación específica se hace problemática y propensa a errores (Formas, 2013). El estado de conocimiento de la especie cuál? se remite a la descripción original realizada por Cuevas & Formas (2001), donde es detallado el holotipo, su coloración, características generales de la larva, los

resultados de los análisis cromosómicos y una breve descripción respecto a la distribución y ecología de la especie.

Con estos antecedentes, este trabajo tiene como objetivo determinar el comportamiento térmico de los renacuajos de *A. hugoi* a lo largo de su desarrollo ontogenético para establecer si existen cambios térmicos graduales.

HIPOTESIS DE TRABAJO

Las larvas de *A. hugoi* presentan termoconformidad a la temperatura del sustrato por sobre la temperatura del ambiente a lo largo del desarrollo ontogenético.

OBJETIVO GENERAL

Evaluar la termoconformidad de renacuajos de *A. hugoi* a dos temperaturas (ambiente y sustrato) durante el desarrollo ontogénico.

OBJETIVOS ESPECIFICOS

- Determinar rasgos térmicos (temperatura corporal, temperatura ambiente, temperatura sustrato) en los estadios larvarios de *A. hugoi*.
- Determinar la relación entre las temperaturas registradas en *A. hugoi*, considerando la masa como covariable en el desarrollo ontogenético.

MARCO TEORICO

Los herpetozoos de Chile presentan patrones de endemismo asociados a procesos climáticos y geomorfológicos que afectan su diferenciación y distribución por diversos factores (Formas, 1995). El ecosistema mediterráneo de Chile central alberga cerca del 50% de los vertebrados del país, con un alto nivel de endemismo, por lo que se le ha catalogado como un “hotspot” de biodiversidad (Myers et al. 2000). Además, varias áreas del territorio nacional se encuentran pobremente estudiadas respecto de su biodiversidad herpetológica, incluyendo la zona central del país. Así, estudios recientes han permitido descubrir nuevas especies y ampliar la distribución de otras (Troncoso-Palacios, 2015). Los nuevos registros y/o ampliaciones de rango de distribución de especies de Chile son un componente relevante de información altamente valorada por entidades directamente relacionadas con el diseño y aplicación de políticas ambientales, así como con la protección y conservación de la diversidad biológica nacional (Fernández, 2011).

El género *Alsodes* Bell 1843 está representado en Chile por 19 especies, 16 de las cuales son consideradas endémicas (Correa et al. 2016). Las especies de este grupo se distribuyen a lo largo de las vertientes orientales de la cordillera de los Andes argentinos, así como en el centro y sur de Chile, incluyendo la cordillera de Nahuelbuta (Rabanal & Alarcón, 2010). Como se mencionó antes, *Alsodes* es el género que más especies endémicas presenta en Chile, dando cuenta del 29,7% del total de especies endémicas de anfibios del país. *Alsodes hugoi* (Cuevas & Formas, 2001) es una de las once especies endémicas del género (Mendez & Correa, 2006; Veloso, 2006), conocida sólo de su localidad tipo Vilches Alto (Cuevas & Formas, 2001). Otra especie con rango restringido corresponde a *Alsodes pehuenche* autor y año, reportado por primera vez como *Telmatobius montanus* autor y año (ahora *A. montanus*) por (Ceí & Roig, 1965) en dos localidades muy cercanas ubicadas en a cada lado de la frontera de Chile y Argentina (36° S). Aparte de la localidad tipo, Araya & Cisternas (2008) informaron nuevas ocurrencias de la especie en sitios hidrológicamente relacionados con el río Lircay en la Región del Maule y cuya distancia máxima entre ellos no supera los 10 km. Además, estos autores extendieron el rango altitudinal hasta 2115 m. Sin embargo, aparte de datos de distribución, el estado de conocimiento de la especie se

remite a la descripción original realizada por Cuevas & Formas (2001) referente al holotipo de la especie, coloración, características generales de su larva, cariotipo, además de una breve descripción respecto a la distribución y ecología de la especie. Por otro lado, en la evaluación de las especies de anfibios de Chile realizada por Veloso (2006), esta especie presentó datos deficientes debido a que no se disponía de información relativa a atributos poblacionales y se tenía escaso conocimiento acerca de la biología de la especie. Se han descrito las larvas de algunas especies de *Alsodes* (Formas & Brieva, 2004) incluyendo condrocraqueo. Sin embargo, aún persisten interrogantes acerca del desarrollo, y el lugar y tipo de ovipostura.

Estudios sobre rasgos de historia de vida, fisiología, termoregulación en *A. hugoi* no han sido realizados hasta ahora. El efecto de temperaturas constantes en los rasgos de la historia de vida de los anfibios ha sido conocido, pero muy poco bajo a temperaturas variables. A pesar de la notable plasticidad que presentan los anfibios a través de periodos embrionarios y larvales (Álvarez & Nicieza, 2002), la temperatura ambiental se ha considerado como uno de los factores abióticos predominantes en el crecimiento y desarrollo de los anuros (Kern et al. 20015). La temperatura tiene efectos diferentes sobre el crecimiento y desarrollo larvario, con diferenciación decrecientes a bajas temperaturas, pero el crecimiento sigue progresando hasta que las temperaturas sean bajas (Smith-Gill & Berven, 1979). Como consecuencia, en los anuros el crecimiento tiende a tener períodos larvarios prolongados a bajas temperaturas y etapas específicas más altas de crecimiento que se producen en condiciones más cálidas (Morrison & Hero, 2003). Además, debido a que la temperatura ejerce un efecto mayor en la diferenciación que en la tasa de crecimiento (Gómez et al. 2010), también puede interactuar con el genoma de un individuo para afectar el desarrollo en el tiempo, forma corporal, tamaño corporal y masa en metamorfosis (Arrighi et al. 2013).

Es evidente que las larvas de los anuros, al igual que los individuos adultos, juegan un papel protagónico en la cadena trófica y flujo de energía del medio donde se encuentran (Duellman, 1986). Las larvas muestran múltiples adaptaciones morfológicas que los convierten en sujetos de gran interés en estudios ecológicos y evolutivos, además de que sus variaciones morfológicas ofrecen una excelente fuente de información para fines sistemáticos

(Hass, 2003; Pugner, 2003). Los ectotermos acuáticos han desarrollado diversos tipos de comportamiento, estrategias bioquímicas y fisiológicas para minimizar el efecto de las fluctuaciones de la temperatura ambiente en la velocidad a la que las funciones de la vida proceden (Johnston & Bennett, 1996; Willmer, 2005).

La mayoría de los anfibios tienen ciclos de vida complejos en los que las larvas a menudo se pueden encontrar en variados hábitats acuáticos como estanques, arroyos, zanjas laterales de carreteras, charcos de aguas efímeras, huecos de árboles, tocones, fuentes termales y otros (Ultsch et al. 1999; Chen et al. 2001). Además, para la mayoría de los ectotermos, la temperatura ambiental determina la temperatura corporal (Guderley, 2004; Seebacher & Murray, 2007). En consecuencia, los cambios de la temperatura ambiental afectan la fisiología, alteran el rendimiento y la forma física de los individuos. La habilidad de los ectotermos para alterar de forma flexible los mecanismos fisiológicos en respuesta a los cambios en la temperatura ambiental (plasticidad/aclimatación/alimentación) determina por tanto su capacidad de amortiguar el rendimiento y aptitud de la variación ambiental (Seebacher et al. 2015). Las fluctuaciones térmicas diarias son particularmente desafiantes para los ectotermos debido a la relación no lineal entre temperatura y procesos fisiológicos, además de demandas metabólicas de mantenimiento celular a altas temperaturas (Ruel & Ayres, 1999). Como tal, las fluctuaciones térmicas diarias aumentan las demandas metabólicas en comparación con las condiciones de temperatura constante, provocando compensación energética que pueden afectar el crecimiento y el desarrollo (Niehaus et al. 2012; Colinet et al. 2015). Además, los cambios de temperatura durante el día en los organismos, no puedan mantener importantes rasgos fisiológicos y de rendimiento como crecimiento, búsqueda de alimento y evitar depredadores. Durante el desarrollo, las fluctuaciones térmicas diarias pueden aumentar las demandas energéticas, lo que resulta en una disminución en las tasas de desarrollo (Niehaus et al. 2006; Les et al. 2007) y tamaño corporal reducido en la madurez en comparación con animales que se desarrollan en una temperatura media equivalente (Niehaus et al. 2006).

Por selección de las temperaturas del agua o sustrato preferidas durante las diferentes etapas de desarrollo, los anuros pueden maximizar su crecimiento y desarrollo. Los resultados anteriores han demostrado que la compensación metabólica y termorregulación

del comportamiento son estrategias fisiológicas comúnmente utilizadas por las larvas para minimizar los efectos de la temperatura en homeóstasis fisiológica (Chen et al. 2001; Wu & Kam 2005). Sin embargo, las larvas de anfibios tienen diferentes períodos larvarios y experimentan varios regímenes térmicos diarios o estacionales, aunque no está claro si utilizan ambas estrategias fisiológicas para hacer frente al estrés térmico. Estos autores (Chen et al. 2001; Wu & Kam 2005) reportaron que los renacuajos de *Buergeria japonica* que viven en piscinas geotérmicas tienen comportamiento termoregulatorio, pero no exhiben compensación metabólica. En los procesos de termoregulación de anfibios, especialmente renacuajos, Fellers et al. (2001) definieron la hibernación en larvas de anuros que pasan el invierno (es decir, Junio – Septiembre en el hemisferio sur) como renacuajos. Varios factores ambientales influyen en las tasas de crecimiento y desarrollo de larvas de anuros (Saha & Gupta, 2001). Durante el período larvario, los anuros exhiben una serie de cambios morfológicos dramáticos (Shimizu y Ota, 2003). Los cambios continuos de apariencia de embriones y larvas durante la ontogénesis necesitan un método para cuantificar el progreso de ese desarrollo (Dünker et al. 2000).

Los renacuajos de la especie *Alsodes* pertenecen al tipo Orton (Orton, 1953), teniendo caracteres relacionados tanto con el medio lótico como con el medio bentónico (cuerpo deprimido, anteroventral disco oral, musculatura caudal, ojos dorsolaterales y aletas bajas) y fórmula de queradonto (Altig & McDiarmid, 1999). Actualmente, esta es la única información sobre renacuajos de *A. hugoi*, lo cual abre una puerta de investigación sobre su comportamiento termoregulatorio y crecimiento ontogenético.

METODOLOGÍA

Area de estudio y material biológico

El sector de Shangri-La (Región de Ñuble, Chile) se encuentra en el Valle Las Trancas a 1200 m.s.m. Presenta un clima templado con flora constituida por bosque caducifolio de *Nothofagus obliqua* (roble) y *Nothofagus pumilio* (lenga) que corresponde principalmente a un bosque de lenga, en algunas situaciones acompañado de roble. En la estrata herbácea se presentan especies como *Alstroemeria presliana* (lirio del campo) y *Codonorchis lessoni*

(orquídea palomita). bosque siempreverde micrófilo de *Nothofagusdombeyi* (Coigüe) con una comunidad higrófila característica de quebradas dominada por coigüe, y comúnmente acompañada de *Drimys winteri* (canelo). Además, presenta matorral achaparrado de *Nothofagus antarctica* (ñirre): vegetación característica de algunos sectores en el límite altitudinal superior arbóreo y en sectores altoandinos protegidos.

Se realizó la recolección de larvas de *A. hugoi* en los arroyos y pequeños charcos de Shangri-La , en los cuales se identificaron visualmente por las características morfológicas. Estas corresponden a un cuerpo deprimido, disco oral anteroventral, musculatura caudal robusta, ojos dorsolaterales y aletas bajas. Los renacuajos fueron sacados con una pequeña red y puestos en frascos de 200 ml provistos con agua del arroyo y rotulados con las coordenadas del lugar de extracción, posteriormente fueron llevados al laboratorio. En el laboratorio cuál fueron puestos en distintas piscinas plásticas de 40 cm x 20 cm x 15 cm, con 1000 ml de agua potable desclorada y oxigenada con bombas de aire para acuarios durante 10 min. Posteriormente, los renacuajos fueron agrupados en las fuentes con agua y clasificado según sus estadios de desarrollo de acuerdo con la tabla de Gosner (1960). Los individuos fueron alimentados con *Lactuca sativa*, previamente hervida y fueron cambiados de sustrato y alimento cada tres días.

Para determinar las características termorreguladoras de los estadios larvarios, en cada experimento los individuos fueron masados (g) con una pesa Patent Pending, modelo No Ltech - 300. Se registró las siguientes temperaturas a cada individuo: temperatura corporal (T_c) con un termómetro laser marca Traceable, temperatura del aire (T_a , a 1 cm del agua) qué termómetro y temperatura del sustrato (en contacto con el agua, T_s) con un termómetro digital con una termocupla de Cu-constante marca Hanna modelo HI 935005 ($\pm 0, 1^\circ \text{C}$). Adicionalmente, se compararon los datos con la temperatura operativa (T_o), la cual se determinó como el promedio de las temperaturas ambientales del laboratorio mientras se efectuaban los experimentos. Para determinar si la pendiente es distinta de 1, se relacionó T_a y T_s versus T_c por medio de la pendiente de regresión lineal.

Las capacidades termorreguladoras de los renacuajos de *A. hugoi* fueron evaluadas usando regresión lineal para T_s , T_a , T_c y usando la masa como cofactor. Los datos obtenidos fueron tabulados en Excel y separados por grupos de estados de desarrollo. Para determinar

la homogeneidad de la varianza se realiza la prueba de ANOVA, que se ejecuta en Excel. La determinación de la correlación de Pearson (r) para las variables de T_c , T_s , T_c , T_a con relación a la masa (g) fue calculada a través del sistema SPSS.

RESULTADOS

La T_c de los estadios más jóvenes (22 - 24) fue de $15,69 \pm 4,23$ °C, mientras que los estadios más desarrollados (36 - 38) fueron de $13,69$ °C \pm $2,88$ °C, y entre todos los estadios el promedio de T_c fue de un valor $13,56$ °C \pm $2,39$ °C. Los valores para T_c , T_a , T_s , T_o y la masa se muestran en la Tabla 1. El promedio de las varianzas de cada temperatura se encuentra tabulado dónde, demostrando una diferencia entre los estadios más jóvenes respectivamente con una desviación standard más significativa en el caso de T_c . En los datos analizados por SPSS para la correlación de Pearson entre temperatura corporal (T_c) y temperatura sustrato (T_s) da un valor 0,981 el cual se encuentra en la Tabla n°2. La correlación de Pearson entre temperatura corporal (T_c °C) y temperatura ambiente (T_a °C) resultó de 0,972 (Tabla 3). La correlación entre la variable temperatura corporal (T_c °C) y la masa (gr) de los renacuajos fue de -0,452, lo cual es inferior a cero (Tabla 4).

Para el análisis de las temperaturas, los resultados se muestran en la Tabla n° 5, fueron analizados por grupos de estadio, mostrando diferencias significativas (ANOVA, $F=4,54 < 0,005$). Para T_a , se registraron diferencias significativas (ANOVA, $F= 4,14 < 0,005$) (Tabla n°6). Para el T_s se registraron diferencias significativas (ANOVA, $F= 3,25 < 0,005$) (Tabla n°7). Para la masa (gr) de los renacuajos, se registraron diferencias significativas (ANOVA, $F=53,56 < 0,005$) (Tabla n°8).

Al determinar la recta de regresión lineal T_c y T_a (figura n°1) entre qué, de qué, qué está comparando, presenta una R^2 de 0,9439 en donde se observa el máximo de que esta bajo la curva un grupo de individuos que corresponden a los renacuajos con mayor desarrollo ontogenético lo que fue establecido con la tabla de Gosner (1960). Para la regresión lineal de la T_c y T_s , con un valor de R^2 0,963, mostrando un grupo de individuos dispersos de la recta.

Para la regresión lineal de la masa dependiente de la temperatura corporal tiene un valor de R^2 de 0,2041.

DISCUSIÓN

El cambio climático antropogénico está provocando impactos biológicos en organismos y ecosistemas del planeta, y los biólogos están intentando comprender y predecir estos impactos (Pacifci et al. 2005). Además, predecir los impactos del cambio climático sobre la biodiversidad implica que sepamos donde y con qué magnitud se producirán dichos impactos (Lips et al. 2005). Inevitablemente, estos efectos son mediados en gran parte por el comportamiento y respuesta fisiológica de los organismos a los cambios de las variables abióticas.

Los anfibios son un grupo de vertebrados altamente amenazados, principalmente debido a la pérdida de hábitat y el aumento de enfermedades emergentes (Stuart et al. 2004). El calentamiento global ha exacerbado la declinación de especies de este grupo, aunque los impactos pueden variar geográficamente (Duarte et al. 2012). Además, debido a que los organismos son ectotermos y, por tanto, tienen temperaturas corporales que reflejan sus entornos en diversos grados (Angilletta, 2009). En el caso de los renacuajos de *Alsodes hugoi* los valores obtenidos en los análisis estadísticos realizados, muestran tendencias a ser termoconforme con relación a T_s respectivamente en cada estado de su desarrollo, pero muy diferente ente los grupos de estadio ontogenético. Sin embargo, en el gráfico de regresión lineal se pueden observar individuos que se escapan de la recta, lo que sugiere que son individuos que se pueden encontrar en estados larvales intermedios cuyos procesos fisiológicos podrían representar compensación entre crecimiento y temperaturas de sustrato. Además, según la ecuación de la recta de la regresión lineal se puede deducir que al aumentar la T_s , aumenta la T_c en 1,15 puntos. En el mismo caso se puede observar con la ecuación de la regresión lineal en la figura n°1, donde al aumentar T_a , la T_c aumenta en 1,15 puntos. También, en la regresión lineal, se puede inferir que es confiable el modelo para hacer esta predicción ya que el valor de R^2 es cercano a 1.

Para las pruebas de normalidad de Kolmogórov-Smirnov (K-S) en relación con las temperaturas de los grupos de estadios, la Tc asigna un valor a la significancia asintótica menos al 0,005, indicando que no hay diferencias significativas entre los grupos de estadios de renacuajos de *A. hugoi*, por lo cual, se rechaza la hipótesis nula que no son termoconformistas. Para en el caso de la variable de Ta el valor de estadístico de prueba 0,273 y significancia asintótica de 0,0001, por lo que se puede inferir que no hay diferencias entre los valores de temperatura ambiente, muestreada a 10 cm sobre la superficie del agua o sustrato. Cuando se comparan las variables cuáles, se pierde uno, se observan en la tabla n°2, donde se analiza Tc con la Ts, se rechaza la hipótesis nula y si existe correlación entre la Ts y Tc. Sin embargo, la correlación de Pearson se obtuvo un valor de 1,0 que determina que, si hay una buena correlación entre las variables, por lo que se puede inferir que los renacuajos de *A. hugoi*, en sus distintas etapas de desarrollo ontogenético.

Por otra parte, la Ta y Tc se puede observar una gran relación entre estas dos variables observadas. En cambio, cuando se analiza la masa de los renacuajos vs? Tc se infiere que las variables se relacionan de forma inversa, es decir, entre mayor masa el renacuajo de *A. hugoi* observado, su Tc era menor, pudieron ser un efecto de ahorro gasto energético menor por parte de sus estructuras y/o menos competencia por los recursos, como también, capacidad térmica estabilizadora para no perder calor para sus actividades celulares.

BIBLIOGRAFIA

- Altig, R; McDiarmid, R. (1999). Body plan. Development and morphology. In: Tadpoles. The Biology of Anura Larvae. The University Chicago Press, 24-51.
- Alvaréz, D; Nicieza, G. (2002). Effects of temperature and food quality on anuran larval growth and metamorphosis. *Functional Ecology*, 16, 640-648.
- Angilletta, M. (2009). *Thermal Adaptation*. Oxford University Press.
- Araya, S; Cisternas, J. (2008). Antecedentes sobre el hábitat, localización y anuros simpátricos a *Alsodes hugoi* (Amphibia, Cycloramphidae) en la localidad tipo. *Boletín del Museo Nacional de Historia Natural*, 57, 127-131.
- Arrighi, J; Lencer, E; Jukar, A; Park, D; Phillips, P; Kaplan, R. (2013). Daily temperature fluctuations unpredictably influence developmental rate and morphology at a critical early larval stage in a frog. *BMC Ecology*, 13.
- Brook, B; Sodhi, N; Bradshaw, C. (2008). synergies among extinction drivers under global change. *Trends Ecol. Evol.*, 23, 453-460.
- Cei, J; Roig, V. (1965). The systematic status and biology of *Telmatobius montanus*. Lataste (Amphibia: Leptodactylidae). *Copeia*, 4, 421-425.
- Chen, T; Kam, T; Lin, Y. (2001). Thermal physiology and reproductive phenology of *Buergeria japonica* (Rhacophoridae) breeding in a stream and a geothermal hot spring in Taiwan. *Zool. Sci.*, 18, 591-596.
- Chim, M; Lopes S; Angelo, A. (2001). Effect of the temperature and the photoperiod on the development of bullfrog. *Rev. Bras. Zootec.*, 30, 916-923.
- Colinet, H; Sinclair, B; Vernon, P; Renault, D. (2015). Insects in fluctuating thermal environments. *Annu. Rev. Entomol.*, 60, 123-140.
- Correa, C; Donoso, J; Ortiz, J. (2016). Estado de conocimiento y conservación de los anfibios de Chile: Una síntesis de los últimos 10 años de investigación. *Gayana*, 80, 103-124.
- Cuevas, C; Formas, J. (2001). A new species of *Alsodes* (Amphibian, Anura, Leptodactylidae) from Central Chile. *Amphibia-Reptilia*, 22, 187-198.

- Díaz-Páez, H; Ortiz, J. (2003). Evaluación del estado de conservación de los anfibios en Chile. *Revista Chilena de Historia Natural*, 76, 509-525.
- Duarte, H; Tejedo, M; Katzenberger, M; Marangoni, F; Baldo, D; Beltran, J; Gonzalez-Voyer, A. (2012). ¿Can amphibians take the heat? Vulnerability to climate warming in subtropical and temperate larval amphibian communities. *Glob. Change Biol.*, 18, 412-421.
- Duarte, M, T; M, K; F, M; D, B; JF, B; A; G, V. (2012). Can amphibians take the heat? Vulnerability to climate warming in subtropical and temperate larval Amphibian communities. *Glob. Change Biol.* 412-421.
- Duellman, W.T. (1986). *Biology of Amphibians*. The John Hopkins University Press, 670pp.
- Duellman, W; Trueb, L. (1994). *Biology of Amphibians*. The John Hopkins University: McGraw-Hill.
- Dünker, N; Wake, M; Olson, W. (2000). Embryonic and larval development in the caecilian *Ichthyophis kohtaoensis* (Amphibia, Gymnophiona): A starting table. *J. Morphol.* 243. 3-34.
- Fellers, G; Launer, E; Rathbun, G; Bobzien, S. (2001). Overwintering tadpoles in the California Red-legged frog (*Rana Aurora draytonii*). *Herpetological Review*, 32, 156-157.
- Felton, A; Fischer, J; Lindermayer, D; Montague-Drake, R; Lowe, A; Saunders, D; Worthy, M. (2009). Climate change, conservation and management: an assessment of the peer-reviewed scientific journal literature. *Biodiversity and Conservation*. 18, 243-253.
- Fernández, L. (2011). Nuevos registros y ampliaciones de rango, ¿Para qué? *Boletín de Biodiversidad*. 1-2.
- Formas, J. (2013). *Alsodes valdiviensis*. IUCN Red List of Threatened Species.
- Formas, J; Brieva, L. (2004). The tadpoles of *Alsodes vanzolinii* and *A. verrucosus* (Amphibian: Leptodactylidae) with descriptions of their internal oral and chondrocranial morphology. *Amphibia-Reptilia*, 25, 151-164.

Formas, J. (1995). Anfibios. En J. Simonetti, M; M. Arroyo; A. Spotorno; E. Lozada. Diversidad Biológica de Chile. (314-325). Santiago, Chile. Comité Nacional de Diversidad Biológica, CONICYT.

Gomez-Mestre, I; Saccoccio, V; Iijima, T; Collins, E; Rosenthal, G; Warkentin, K. (2010). The shape of things to come: linking developmental plasticity to pots-metamorphic morphology in anurans. *Journal of Evolutionary Biology*, 23, 1364-1373.

Gosner, K. (1960). A simplified table for staging anuran embryos and larvae with notes on identification. *Herpetológica*. 16. 183-190.

Guderley, H. (2004). Metabolic responses to low temperature in fish muscle. *Biol. Rev.*, 79, 409-427.

Hass, A. (2003). Phylogeny of frogs as inferred from primarily larval characters (Amphibian: Anura). *Cladistics*, 19, 23-89.

Hillman, S; Withers, P; Drewes, D; Hillyard, S. (2009). Ecological and environmental physiology of amphibians. Oxford University Press, 464 pp.

Hochachka P.W. (2002) Biochemical adaptation: mechanism and process in physiological evolution. New York: Oxford University Press. 466 p.

Johnston, I; Bennett, A. (1996). Animals and Temperature: Phenotypic and Evolutionary Adaptation. University Press.

Jorgensen, C. (1992). Growth and reproduction: In: Environmental physiology of the amphibians. University of Chicago Press, 439-466.

Kern, P; Cramp, R; Franklin, C. (2015). Physiological responses of ectotherms to daily temperature variation. *Journal Of Experimental Biology*, 218, 3068-3076.

Labra, A; Vidal, M; Solis, R; Penna, M. (2008). Ecofisiología de anfibios y reptiles. En *Herpetología de Chile*. (483-516). Santiago, Chile.: Vidal, M; Labra, A.

Lambrinos, J; Kleier, C. (2003). Thermoregulation of juveniles Andean toads (*Bufo spinulosus*) at 4300m. *Journal of Thermal Biology*, 28, 15-19.

- Laurance, W. (2008). Global warming and amphibian extinctions in eastern Australia. *Austral Ecology*, 33, 1-9.
- Les, H; Paitz, R; Bowden, R. (2007). Experimental test of the effects of fluctuating incubation temperatures on hatchling phenotype. *J. Exp. Zool. Genet. Physiol.* 307a, 274-280
- Lips, K; Burrowes, P; Meldenson; J; Parra-Olea, G. (2005). Amphibian declines in Latin America: widespread population declines, extinctions, and impacts. *Biotropica*, 37, 163-165.
- Lobos, G; Vidal, M; Correa, C; Labra, A; Díaz-Páez, H; Charrier, A; Tala, C. (2013). *Anfibios de Chile, un desafío para la conservación*. Santiago, Chile.: Fundación Facultad de Ciencias Veterinarias y Pecuarias de la Universidad de Chile y Red Chilena de Herpetología.
- McCallum, M. (2007). Amphibian decline or extinction? Current declines dwarf back-ground extinction rate. *Journal Herpetology*, 483-491.
- Mendez, M; Correa, C. (2006). *Biodiversidad de Chile, Patrimonio y desafíos*. Santiago, Chile: Ocho Libros Editores.
- Morrison, C; Hero, J. (2003). Geographic variation in life-history characteristics of amphibian: a review. *Journal of Animal Ecology*, 72, 270-279.
- Moyes, C.S. (2007). *Principios de Fisiología Animal*. España: Addison Wesley.
- Myers, N; Mittermeier, R; C, Fonseca; Kent, J. (2000). Biodiversity hotspots for conservation priorities. *Nature*, 403, 853-858.
- Navas, C. (1997). Thermal extremes at high elevations in the Andes: Physiological ecology of frogs. *J. Therm. Biol.*, 22, 467-477.
- Niehaus, A; Angilletta, M; Sears, M; Franklin, C; Wilson, R. (2012). Predicting the physiological performance of ectotherms in fluctuating thermal environments. *J. Exp. Biol.*, 215, 694-701.
- Niehaus, A; Wilson, R; Franklin, C. (2006). Short-and-long term consequences of thermal variation in the larval environment of anurans. *J. Anim. Ecol.* 75. 686-692.
- Orton, G. (1953). The systematics of vertebrate larvae. *Syst. Zool.* 2. 63-75.

- Pacifici, M; Foden, W; Visconti, P; Watson, J; Butchart, S; Kovacs, et al. (2015). Assessing species vulnerability to climate change. *Nat. Clim. Change*. 5. 215-224.
- Parmesan, C; Ryrholm, N; Stefanescu, C; Hill, J; Thomas, C; Descimon, H; Kullberg, J. (1999). Poleward shifts in geographical ranges of butterfly species associated with regional warming. *Nature*, 399, 579-583.
- Pounds, J; Bustamante, M; Colomo, L; Consuegra, J; Fogden, M; Foster, P; Young, B. (2006). Widespread amphibian extinctions from epidemic disease by global warming. *Nature*, 439, 161-167.
- Pugener, L. M. (2003). Revisiting the contribution of larval characters to an analysis of phulogenetic relationships of basal anurans. *Zoological Journal of the Linnean Society*. 139, 129-155.
- Rabanal, F; Alarcón, D. (2010). Amphibia, Anura, Cycloramphidae, *Alsodes vanzolini*: Rediscovery in nature, latitudinal and altitudinal extension in Nahuelbuta range, southern Chile. *Check List, Journal of species list and distribution.*, 6, 2010.
- Ruel, J; Ayres, M. (1999). Jensen inequality in the thermal tolerance of zebrafish *Danio rerio*. *J. Fish Biol.* 69. 361-366.
- SAG. (2015). *Ley de caza y su reglamento*. Santiago, Chile. Subdepartamento de Vida Silvestre, División de Protección de los Recursos Naturales Renovables.
- Saha, B; Grupta, B. (2011). The development and metamorphosis of an endangered frog, *Rana leptogloss* (COPE 1968). *Rev. Biol. Trop.*, 59, 347-353.
- Sanabria, E.Q. (2011). Thermal parameters changes in males *Rhinella arenarum* (Anura: Bufonidae) related to productive periods. *Rev. Biol. Trop.*, 59, 347-353.
- Seebacher, F; Murray, S. (2007). Transient receptor potential ion channels control thermoregulatory behaviour in reptiles. *PLoS ONE*, 2, e281.
- Seebacher, F; White, C.R.; Franklin, C.E. (2015). Physiological plasticity increases resilience of ectothermic animals to climate change. *Nat. Climate Change*. Vol. 5. 61-66.

- Shimizu, S; Ota, H. (2003). Normal development of *Microhyla ornata*: The first description of the complete embryonic and larval stages for the microhylid frogs. *Curr. Herpetol.* 22. 73-90.
- Smith-Gill, S; Berven, K. (1979). Predicting amphibian metamorphosis. *American Naturalist*, 113, 563-585.
- Stuart, S; Chanson, J; Cox, N; Young, B; Rodriguez, A; Fischman, D; Waller, R. (2004). Status and trends of Amphibian declines and extinctions world-wide. *Science*, 306. 1783-1786.
- Troncoso-Palacios, J.D. (2015). Two new species of the *Liolaemus elongatus-kriegi* complex (Iguania, Liolaemidae) from Andean highlands of southern Chile. *Zookeys*, 500, 83-109.
- Ultsch, G; Bradford, D; Freda, J. (1999). *Physiology coping with the environment*. University Chicago Press, 202-210.
- Ultsch, G; Bradford, D; Freda, J. (1999). *Tadpoles: The Biology of Anura Larvae*. The University of Chicago Press, 189-214.
- Veloso, A. (2006). Batracios de las cuencas hidrográficas de Chile: Origen, Diversidad y Estado de conservación. En *Macrófitas y vertebrados de los sistemas límnicos de Chile*. Santiago, Chile. Editorial Universitaria.
- Vidal, M; Labra, A. (2008). *Herpetología de Chile*. Santiago de Chile.: Springer Verlag.
- Willmer, P. S. (2005). *Environmental Physiology of Animals*. Oxford, UK.: Blackwell Science Ltda.
- Wu, C; Kam, Y. (2005). Thermal tolerance and thermoregulation by *Taiwanese rhacophorid* tadpoles (*Buergeria japonica*) living in geothermal hot spring and streams. *Herpetologica*. 61. 35-46.
- Zippel, K. (2010). Climate change and amphibians. *Anim. Keep. Forum*, 37, 537-541.

TABLAS

Tabla n°1: Rasgos térmicos registrados de los diferentes estadios larvarios de *Alsodes hugoi* (promedio± desviación estándar). Temperatura corporal (Tc, °C), Temperatura ambiente (Ta, °C), Temperatura sustrato (Ts, °C), Temperatura óptima (To, °C) y masa (gr).

Rango Estadio	n	Tc	Ta	Ts	To	Masa
22 - 24	35	15,69 ± 4,23	14,7±3,8	14,7±3,8	10,3±0,3	0,9±0,3
25 - 27	22	13,84 ± 3,13	12,9±3,0	12,8±3,1	10,3±0,3	1,2±0,3
28 - 30	15	13,46 ±0,34	13,0±3,2	13,0±3,1	10,2±0,3	1,4±0,4
31 - 32	15	13,53 ±2,21	12,1±1,0	12,8±1,9	10,4±0,2	1,7±0,4
33 - 35	14	11,14 ±1,54	11,1±1,1	11,1±1,2	10,0±0,1	2,1±0,4
36 - 38	34	13,69 ±2,88	12,4±0,1	13,3±0,1	10,3±0,3	2,0±0,3
Promedio		13,55 ± 2,38	12,7 ± 2,00	12,95±2,2	10,2±0,25	1,55±0,35

Tabla n°2: Correlación de Pearson (r) entre Temperatura corporal (Tc) y temperatura de sustrato (Ts) en grados Celsius (°C) de renacuajos de *Alsodes hugoi*.

		TC (°c)	TS (°c)
r	TC (°c)	1,000	0,981
	TS (°c)	0,981	1,000
Sig. (unilateral)	TC (°c)	-	0,000
	TS (°c)	0,000	.
N	TC (°c)	135	135
	TS (°c)	135	135

Tabla n°3: Correlación de Pearson (r) entre temperatura corporal (Tc °C) y temperatura ambiente (Ta °C) de renacuajos *Alsodes hugoi*.

		TC (°c)	TA (°c)
	TC (°c)	1,000	0,972
	TA (°c)	0,972	1,000
Sig. (unilateral)	TC (°c)	.	0,000
	TA (°c)	0,000	-
N	TC (°c)	135	135
	TA (°c)	135	135

Tabla n°4: Correlación de Pearson (r) entre temperatura corporal (Tc °C) y la masa (g) de renacuajos *Alsodes hugoi*.

Correlaciones

		TC (°c)	Masa (g)
	TC (°c)	1,000	-0,452
	Masa (g)	-0,452	1,000
Sig. (unilateral)	TC (°c)	-	0,000
	Masa (g)	0,000	-
N	TC (°c)	135	135
	Masa (g)	135	135

Tabla n° 5: Análisis ANOVA para temperaturas corporales (Tc °C) de renacuajos de *Alsodes hugoi* de los seis grupos de estadios de desarrollo.

	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Promedio de los cuadrados	F	Probabilidad	Valor crítico para F
Entre grupos	235,14	5	47,02	4,54	0,001	2,28
Dentro de los grupos	1333,46	129	10,33			
Total	1568,61	135				

Tabla n°6: Análisis de ANOVA para temperaturas ambiente o del aire (T_a °C) de los seis grupos de estadio de renacuajos de *Alsodes hugoi*.

	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Promedio de los cuadrados	F	Probabilidad	Valor crítico para F
Entre grupos	155,81	5	31,16	4,14	0,001	2,28
Dentro de los grupos	969,35	129	7,51			
Total	1125,17	135				

Tabla n°7: Análisis de ANOVA para la temperatura de sustrato (T_s °C) de los seis grupos de estadio de renacuajos de *Alsodes hugoi*.

Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Promedio de los cuadrados	F	Probabilidad	Valor crítico para F
Entre grupos	133,46	5	26,69	3,25	0,008	2,28
Dentro de los grupos	1056,39	129	8,18			
Total	1189,85	135				

Tabla n°8: Análisis de ANOVA de la masa (g) de renacuajos de *Alsodes hugoi* para los 6 grupos de estadios.

Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Promedio de los cuadrados	F	Probabilidad	Valor crítico para F
Entre grupos	30,17	5	6,03	53,56	0,001	2,28
Dentro de los grupos	14,53	129	0,11			
Total	44,70	135				

Tabla n°9: Prueba no-paramétrica de Kolmogórov-Smirnov para la temperatura corporal o cloacal (Tc °C) de *Alsodes hugoi*.

		TC (°c)
N		135
Parámetros normales ^{a,b}	Media	13,92
	Desv.	3,44
	Desviación	
Máximas diferencias extremas	Absoluto	0,23
	Positivo	0,23
	Negativo	-0,14
Estadístico de prueba		0,23
Sig. asintótica(bilateral)		0,000 ^c

a. La distribución de prueba es normal.

b. Se calcula a partir de datos.

c. Corrección de significación de Lilliefors.

Tabla n°10: Prueba no-paramétrica de Kolmogórov-Smirnov para la temperatura ambiental (Ta °C) de *Alsodes hugoi*.

		TA (c°)
N		135
Parámetros normales ^{a,b}	Media	13,107
	Desv.	2,8977
	Desviación	
Máximas diferencias extremas	Absoluto	0,273
	Positivo	0,273
	Negativo	-0,206
Estadístico de prueba		0,273
Sig. asintótica(bilateral)		0,000 ^c

a. La distribución de prueba es normal.

b. Se calcula a partir de datos.

c. Corrección de significación de Lilliefors.

FIGURAS

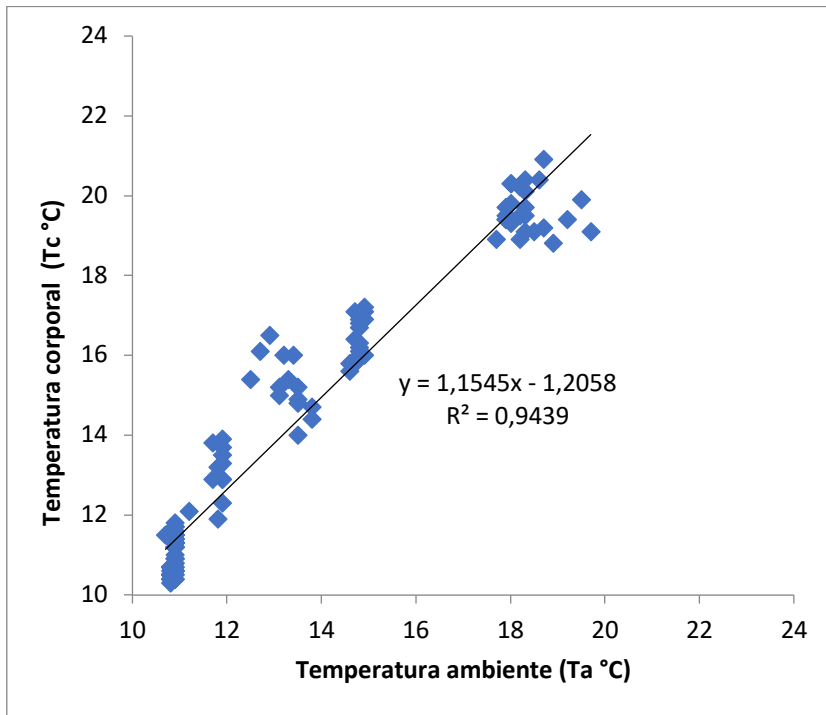


Figura n°1: Regresión lineal para temperatura cloacal o corporal (Tc °C) dependiente de la temperatura ambiental o del aire (Ta °C).

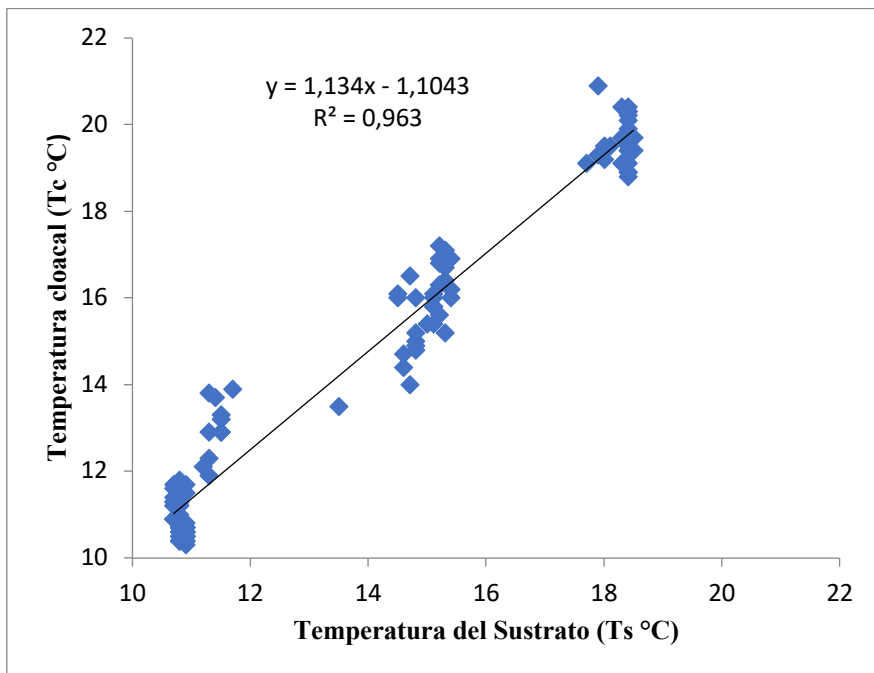


Figura n°2: Regresión lineal para temperatura cloacal o corporal (Tc °C) dependiente de la temperatura del sustrato (Ts °C).

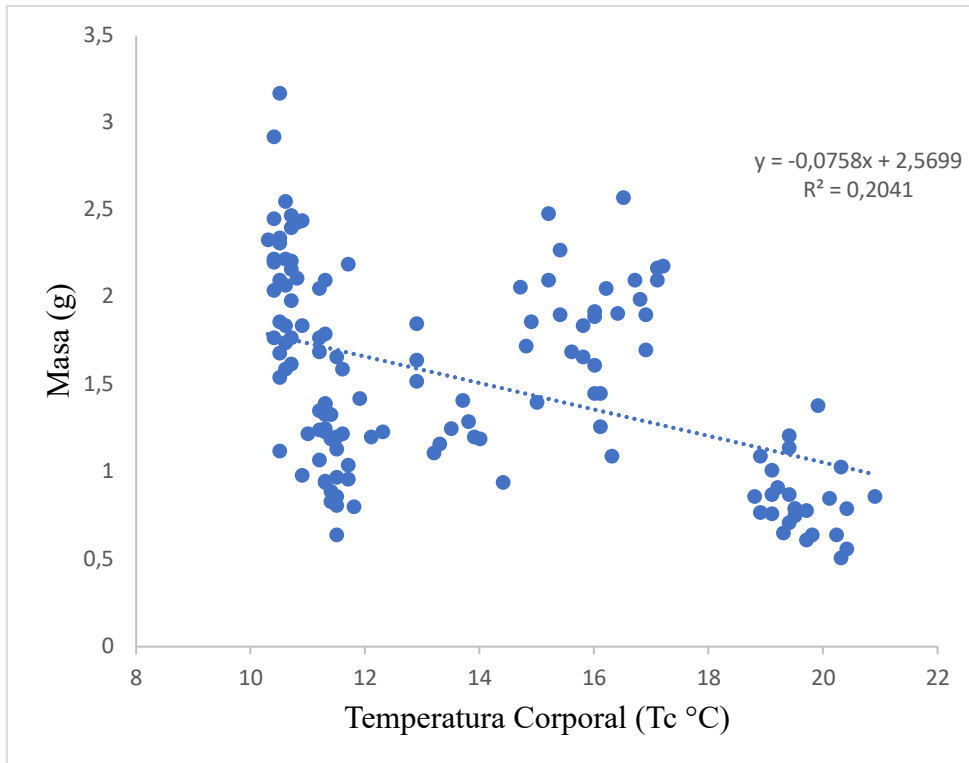


Figura n°3: Recta de regresión lineal para la masa (gr) dependiente de la temperatura cloacal o corporal (Tc °C).